Environnement Canada
Service canadien des forêts

Environment Canada
Canadian Forestry Service

Analyse physique de la dispersion de *Bacillus thuringiensis* contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette

Physical Analysis of the Dispersion of *Bacillus thuringiensis* against Spruce Budworm.

LAU-X-55

W.A. Smirnoff et / and A. Juneau

Environment Canada Environnement Canada

0016024G DEST PVM EXCH COPY 03
SB 761 C328
VOL ISS 55
CENTRE DE RECHERCHES DES LAURENTIDE
S. RAPPORT D'INFORMATION LAU-X

canusa

ANALYSE PHYSIQUE DE LA DISPERSION DE *BACILLUS THURINGIENSIS* CONTRE LA TORDEUSE DES BOURGEONS DE L'ÉPINETTE

PHYSICAL ANALYSIS OF THE DISPERSION OF *BACILLUS THURINGIENSIS* AGAINST SPRUCE BUDWORM

W.A. Smirnoff et/and A. Juneau

LAU-X-55
1982

CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES DES LAURENTIDES
SERVICE CANADIEN DES FORÊTS
MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT
1080 ROUTE DU VALLON
C.P. 3800
SAINTE-FOY, QUÉBEC
G1V 4C7

LAURENTIAN FOREST RESEARCH CENTRE
CANADIAN FORESTRY SERVICE
DEPARTMENT OF THE ENVIRONMENT
1080 ROUTE DU VALLON
P.O. BOX 3800
SAINTE-FOY, QUEBEC
G1V 4C7

Exemplaires disponibles
Copies available

N° de catalogue Fo46-18/55
Catalogue No. Fo46-18/55
ISSN 0703-2196
ISBN 0-662-52144-7

©Ministère des Approvisionnements et Services Canada, 1982
©Department of Supply and Services Canada, 1982

Front cover: Photo National Aeronautical Establishment, Ottawa
Couverture: Photo Établissement national aéronautique, Ottawa

AVANT-PROPOS

Le présent rapport démontre une des étapes qu'on a dû franchir pour l'utilisation aérienne de *Bacillus thuringiensis* en foresterie. C'est une étape de base qui a conduit subséquemment au développement de préparations plus concentrées de *B. thuringiensis*, dispersables dans un volume plus bas, et au développement de nouvelles méthodes pour la détermination de la quantité de matière active, spores viables de *B. thuringiensis* dispersées au sol. Effectivement, la méthode décrite ne concerne que l'aspect physique de la dispersion.

PREFACE

This report describes an essential stage that had to be refined in the aerial dispersion of *Bacillus thuringiensis* in forestry. This basic stage led to the development of more concentrated *B. thuringiensis* formulas dispersed at a lower volume, and to methods for determining the quantity of active material, *B. thuringiensis* viable spores, dispersed at ground level. This method deals with the physical aspect of dispersion.

TABLE DES MATIÈRES/TABLE OF CONTENTS

	Page
RÉSUMÉ/ABSTRACT	
INTRODUCTION/INTRODUCTION	1
MATÉRIEL ET MÉTHODES/MATERIAL AND METHODS	2
Préparations bacillaires/Bacillary preparations	2
Évaluation de la dispersion/Deposit assessment	3
Dispositif d'échantillonnage/Sampling device	3
Détermination du volume dispersé/Determination of dispersed volume	4
Systèmes de dispersion/Dispersion systems	5
RÉSULTATS/RESULTS	5
Caractéristiques des gouttelettes /Droplet characteristics	5
Perte par évaporation/Loss through evaporation	6
Évaluation des systèmes de dispersion/Evaluation of spray systems	7
Estimation du dépôt au sol/Deposit assessment	7
Caractéristiques du spectre de distribution des gouttelettes/ Characteristics of droplet spectrum	7
Efficacité relative des préparations/Relative effectiveness of formulas	10
CONCLUSIONS/CONCLUSIONS	13
TRAVAUX RÉCENTS/RECENT FINDINGS	17
RÉFÉRENCES/REFERENCES	17

RÉSUMÉ

L'analyse physique de trois préparations de *Bacillus thuringiensis* dispersées au moyen de quatre systèmes de dispersion différents a été réalisée. Les résultats révèlent notamment que le système de dispersion à buses sur longerons rencontre mieux les normes de dispersion requise pour le *B. thuringiensis* soit la formation de gouttelettes d'un diamètre variant entre 200 et 400 µm. De plus, la préparation à base de Thuricide avec le sorbitol comme liquide transporteur s'est avérée la moins volatile. Ceci a permis l'élaboration de recommandations précises afin d'assurer une efficacité et une économie maximales pour la dispersion de préparations de *B. thuringiensis* contre la tordeuse (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)).

ABSTRACT

The physical analysis of three *Bacillus thuringiensis* formulas dispersed by four different spray systems was carried out. The boom and nozzle spray system gave the best results, meeting the dispersion requirements for *B. thuringiensis*, i.e. formation of droplets with diameters between 200 and 400 µm. Also, the formula with Thuricide as a base and sorbitol as a carrier was the least volatile. This led to a proposal of precise recommendations for maximum efficacy and economical use of *Bacillus thuringiensis* formulas against spruce budworm (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)).

Smirnoff, W.A.; Juneau, A. 1982. Analyse physique de la dispersion de *Bacillus thuringiensis* contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette/Physical analysis of the dispersion of *Bacillus thuringiensis* against spruce budworm. Can. Serv. Can. For. Centre Rech. For. Laurentides, Ste-Foy, Qué. LAU-X-55.

INTRODUCTION

Depuis 1971, la Section de pathologie des insectes du Centre de Recherches forestières des Laurentides (CRFL), ministère de l'Environnement, participe à un programme de recherches pour la répression de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)). Ce programme vise à développer des méthodes opérationnelles de lutte biologique comme substituts aux méthodes préconisant l'utilisation des insecticides chimiques, ces derniers s'avérant une menace potentielle pour le bien-être de l'homme, de la faune et de l'environnement en général.

Puisqu'aucun microorganisme indigène de la tordeuse ne s'est avéré suffisamment pathogène pour atteindre une valeur d'utilisation opérationnelle, l'actuel programme de recherche en forêt s'est développé à partir de l'utilisation d'une bactérie produite commercialement et reconnue depuis plusieurs années pour la répression de divers lépidoptères agricoles (Steinhaus 1951, 1957, Stern et al. 1959, Hall et al. 1959). Cette bactérie, *Bacillus thuringiensis* Berliner, fut donc étudiée en laboratoire; après avoir déterminé son mode d'action chez la tordeuse, on remarqua que l'addition de traces de l'enzyme chitinase augmentait l'efficacité des préparations (Smirnoff 1971, 1977). Subséquemment, les préparations bacillaires avec chitinase furent éprouvées en forêt sur des parcelles de dimensions variées au moyen d'atomisateurs portatifs ou d'avions de diverses capacités de chargement (Smirnoff et al. 1973a, 1973b, 1976; Smirnoff 1978a, 1978b, 1979, 1980a; Smirnoff et Hardy 1978).

Jusqu'en 1973, le taux de dispersion utilisé (20×10^9 B.I.U. dans 18,7 L/ha) rendait les coûts de la méthode biologique prohibitifs à cause de la trop grande quantité de matériel à manipuler. Une préparation plus concentrée fut mise au point et permit la dispersion de la quantité requise de matériel pathogène (20×10^9 unités internationales/ha)

INTRODUCTION

Since 1971 the Insect Pathology Unit of the Laurentian Forest Research Centre (LFRC), Department of the Environment, has participated in a research program for the control of spruce budworm (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)). This program aimed at developing operational methods of biological control as a substitute for chemical insecticides because the latter proved to be a potential menace to the well-being of man, fauna, and environment.

No indigenous microorganism proved sufficiently pathogenic to this pest to attain operational levels. Therefore, the current forest research program was developed using a commercially produced bacterium, known for its control of various agricultural *Lepidoptera* (Steinhaus 1951, 1957; Stern et al. 1959; Hall et al. 1959). This bacterium, *Bacillus thuringiensis* Berliner, was studied in the laboratory. After determining its mode of action on the budworm, it was noted that traces of the enzyme chitinase in the formula enhanced its efficacy (Smirnoff 1971, 1977). *B. thuringiensis* formulas with chitinase were tested on forest plots of variable sizes, with portable atomizers or by aircraft with a broad spectrum of load capacities (Smirnoff et al. 1973a, 1973b, 1976; Smirnoff 1978a, 1978b, 1979, 1980a; Smirnoff and Hardy 1978).

Until 1973, the dispersible volume (20×10^9 B.I.U. in 18.7 L/ha) made this method prohibitive. A more concentrated formula was developed dispersing the required amount of pathogenic material (20×10^9 international units/ ha) in a final volume of 4.7 L/ha (Smirnoff et al. 1974). A second formula, also dispersible at 4.7 L/ha, was developed in 1976 (Smirnoff 1979).

Originally, the physical properties of the dispersion of bacillary formulas were evaluated using the same technology as that for dispersing chemical insecticides: i.e. the same dispersion systems, calibrated according to the same criteria with the same deposit

dans seulement 4,7 L/ha de volume dispersé (Smirnoff et al. 1974). Une deuxième préparation, également dispersable dans 4.7 L/ha, fut développée en 1976 (Smirnoff, 1979).

Les propriétés physiques de la dispersion des préparations bacillaires furent d'abord évaluées d'après la technologie utilisée pour la dispersion des insecticides chimiques c'est-à-dire l'utilisation des mêmes systèmes de dispersion, calibrés selon les mêmes critères et les mêmes méthodes d'évaluation de la dispersion au sol des pesticides chimiques. Cette situation a entraîné plusieurs problèmes et nécessité plusieurs adaptations puisqu'il s'agissait de suspensions de spores du bacille et non de solutions chimiques. Le présent article rapporte les résultats des analyses physiques de dispersion du bacille et les conclusions qui en découlent.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Préparations bacillaires

Trois préparations ont servi à nos études:

A 25 parties de Thuricide HPC[a]
25 parties de Polyglycol 400[b]
50 parties d'eau.
1/1600 de l'adhésif Chevron[c]
10 000 unités néphélémétriques de chitinase/ha.

Cette préparation était dispersée à raison de 18,7 L/ha et n'a été utilisée qu'en 1971 et 1972.

B 50 parties de concentré de bacille
20 parties de sorbo (une solution aqueuse de sorbitol à 70%
30 parties d'eau.

On ajoute les quantités de l'adhésif Chevron et de chitinase mentionnées en A.

[a] Sandoz Inc., San Diego, California
[b] Dow Chemical Ltée, Sarnia, Ontario
[c] Chevron Chemicals Ltée, Oakville, Ontario

assessment techniques as those used with chemical pesticides. However, since we were dealing with bacillary spore suspensions and not with chemical solutions, several problems arose requiring adjustments. The current article reports the results of a physical analysis of the dispersion of bacillary preparations and our conclusions.

MATERIAL AND METHODS

Bacillary preparations

Three formulas were used:

A 25 parts of Thuricide HPC[a]
25 parts of Polyglycol 400[b]
50 parts of water.
1/1 600 Chevron[c] sticker
10 000 Nephelometric units of chitinase/ha.

This formula was sprayed at a rate of 18.7 L/ha and was used only in 1971 and 1972.

B 50 parts of bacillus concentrate
20 parts of sorbo (an aqueous 70% sorbitol solution)
30 parts of water

The amounts of Chevron sticker and chitnase listed under A were added.

[a] Sandoz Inc., San Diego, California
[b] Dow Chemical Ltd., Sarnia, Ontario
[c] Chevron Chemicals Ltd., Oakville, Ontario

C 50 parties de concentré de bacille
50 parties de phosphate dihydrogène de sodium (NaH_2PO_4).

On ajoute les quantités de l'adhésif Chevron et de chitinase mentionnées en A.

Les préparations B et C sont dispersées à 4.7 L/ha et sont utilisées depuis 1973 jusqu'à maintenant. Les préparations B et C ont été réalisées à partir des concentrés de bacille suivants:
Thuricide 32B[d] (8,4 x 10^9 unités internationales (U.I.)/L.) Dipel SC-36B (9,5 x 10^9 U.I./L) et Novabac 32B[e] (8,4 x 10^9 U.I./L).

Pour fin de simplification les vocables Thuricide + sorbitol, Thuricide + phosphate etc... ont été utilisés pour décrire les préparations. Par exemple, Thuricide + sorbitol signifie que le Thuricide a été utilisé comme concentré de bacille dans la préparation B. La préparation A n'a été employée qu'avec le Thuricide HPC (4,2 x 10^9 U.I./L).

C 50 parts of bacillus concentrate
50 parts of sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4).

The amounts of Chevron sticker and chitnase listed under A were added.

Formulas B and C were sprayed at the rate of 4.7 L/ha and have been used from 1973 until the present. They were composed of the following bacillus concentrates:
Thuricide 32B[d] (8.4 x 10^9 international units (I.U./L) Dipel SC-36B (9.5 x 10^9 I.U./L) and Novabac 32B[e] (8.4 x 10^9 I.U./L).

Thuricide + sorbitol, Thuricide + phosphate etc. are used to describe the formulas For example, Thuricide + sorbitol indicates that Thuricide was used as the bacillary concentrate in formula B. Formula A was only used with Thuricide HPC (4.2 x 10^9 I.U./L).

Évaluation de la dispersion

Dispositif d'échantillonnage

Le dispositif d'échantillonnage consiste en des papiers Kromekote[f] de 10 x 10 cm placés le long d'une route ou d'un sentier traversant la parcelle traitée perpendiculairement aux lignes de vol. Les papiers témoins fixés sur des plaques de plastique ou de bois, sont placés à chaque 20 m et sont ramassés environ 45 minutes après le dernier vol afin de s'assurer que toute la dérive de dispersion est effectivement tombée.

Deposit assessment

Sampling device

Kromekote[f] paper cards (10 x 10 cm) were placed along a path crossing the treated plot; transects ran perpendicular to the flight lines. Control cards, attached to plastic or wood plaques, were placed 20 m apart; they were collected 45 minutes after the last flight to ascertain that drifting droplets reached the target.

---

[d] Préparation à base d'eau ; Laboratoires Abbott, North-Chicago, Illinois, USA

[e] Biochem Ltée Bruxelles, Belgique; distribué au Canada, par Biochem Products, Mortchanin Delaware, USA

[f] Glasskote 2026, des papiers Kruger, Montréal, Québec

[d] A water-based concentrate from Abbott Laboratories, North-Chicago, Illinois, USA

[e] Biochem Ltd. Brussels, Belgium. Distributed in Canada by Biochem Products Montchanin, Delware, USA

[f] Glasskote 2026, Kruger Paper, Montreal, Quebec

Détermination du volume disperse

DÛ à la quantité de matière solide dans les préparations de bacille, il s'avéra impossible d'utiliser la technologie développée pour évaluer la dispersion de solutions de pesticides chimiques. On utilisa donc un facteur de 2 x pour le rapport dimension de l'impression sur le papier/ dimension de la gouttelette originale (W.H. Haliburton, communication personnelle). Ce facteur fut appliqué pour chacune des classes de diamètre de gouttelettes mesurées.

Jusqu'en 1973 on procéda manuellement de la façon suivante: les points d'impression sur carte étaient projetés sur l'écran d'un lecteur de microcartes opaques[9]. Sur l'écran du lecteur on place un quadrillé transparent dont chaque unité représente 1 cm^2 de surface du papier témoin. Les gouttelettes dans chacun des carrés sont réparties en classe de diamètre de 20 µm, et l'on fait la somme pour obtenir la densité de la dispersion en nombre de gouttelettes par cm^2.

La somme des produits des densités de la classe moyenne de diamètre multipliée par une valeur de volume reliée au volume des gouttelettes moyennes de chaque classe donne le volume déposé en L/ha.

A compter de 1974, les résultats mentionnés précédemment sont obtenus directement grâce à une méthode développée par l'Etablissement aéronautique national à Ottawa (Slack 1972). Cette méthode consiste à photographier les papiers témoins et à en faire la lecture à l'aide d'un lecteur électronique couplé à un ordinateur programmé pour donner directement le volume en L/ha ou onces/acre, le nombre de gouttelettes/cm^2, le nombre de gouttelettes dans chaque classe de diamètre etc...

[9] Microopaque Card Reader, Model 456-722, National Cash Register Co., Ottawa, Ontario

Determination of dispersed volume

Bacillary formulas contain solid matter making it impossible to use technology developed for evaluating dispersion of chemical pesticide. A factor of 2 x was used for the ratio between the dimension of the impression on paper/dimension of original droplet (W.H. Haliburton, personal communication). This factor was applied to each droplet diameter class measured.

Until 1973 a manual procedure was used: the points of impression on the card were projected on the screen of a microopaque card reader[9]. A transparent wedge-scale where each unit represented 1 cm^2 of the control card surface was placed on the reader screen. The droplets in each square were tallied into 20 µm, diameter classes, and totalled to give drop density values, i.e. the density of dispersion in number of droplets/cm^2.

The total of the products of size-class densities and appropriate class volume conversion values yielded estimated deposit volume values for each card in L/ha.

Since 1974 a method developed by the National Aeronautical Establishment in Ottawa (Slack 1972) has been used. The control cards are photographed and analyzed with an electronic scanner coupled with a data processor, giving a direct reading of the volume in L/ha or ounces/acre, the number of droplets/cm^2, the number of droplets in each diameter class etc.

[9] Microopaque Card Reader, Model 456-722, National Cash Register Co., Ottawa, Ontario

Systèmes de dispersion

Trois systèmes de dispersion furent utilisés sur quatre appareils différents:

1) Un système avec longerons munis de 4 unités **Micronair**[h] AV 3 000 composées de lames plates de (36 cm) ajustées à 25° et d'un réducteur d'ouverture n° 10. Le système était fixé à un appareil Stearman équipé d'une pompe centrifuge actionnée par le vent.

2) Un système avec longerons équipés de 4 têtes de dispersion **Beecomist**[i] de 80 µm. Le système était fixé à un hélicoptère Sikorsky S55-T muni d'une pompe hydraulique.

3) Un système avec longerons et 40 **buses** Tee-jet 8010 fixé sur un appareil TBM Avenger, muni d'une pompe hydraulique.

4) Un système avec longerons et 39 **buses** à jet plat de 80° (T 8004). Ce dispositif était fixé sur un appareil Grumman AgCat muni d'une pompe centrifuge actionnée par le vent.

Dispersion systems

Three different dispersion systems were used with four different aircrafts:

1) A stearman aircraft equipped with a boom and wind-driven centrifugal pump. To this were attached four **Micronair**[h] AV 3 000 rotary cage atomizing units with (36 cm) flat blades at a 25°angle, and a restricter unit set at No. 10 opening.

2) A Sikorsky S55T helicopter with a hydraulic pump and booms fitted with four 80 µm **Beecomist**[i] spray heads.

3) A TBM Avenger with a hydraulic pump, equipped with a system of **booms** and 40 Tee-jet **nozzles** 8010.

4) A Grumman AgCat aircraft with a wind-driven centrifugal pump, equipped with a system of **booms** and 39 x 80° flat-fan spray **nozzles** (T 8004).

RÉSULTATS

Caractéristiques des gouttelettes

Lorsque déposé sur papier témoin, les gouttelettes de préparations bacillaires forment un noyau central solide entouré d'une zone constituée d'une fraction plus liquide de la préparation, laquelle zone se diffuse de façon variable dans le papier témoin (figure 1). La variabilité de la dimension de cet anneau est causée par la variation de la perte par évaporation de la fraction eau dans chacune des gouttelettes lorsqu'elle tombe sur le papier témoin. L'anneau entourant le noyau central peut être jusqu'à deux fois plus large que le diamètre du noyau central.

RESULTS

Droplet characteristics

Droplets of bacillary formulas deposited on paper cards form a solid central nucleus surrounded by a zone formed by the more liquid fraction of the formula. This zone diffuses to variable extents in the test paper (Figure 1). The variability in the dimensions of this ring is due to the variations in the water fraction of each droplet lost by evaporation while it falls to the test paper. The ring surrounding the central core may be twice as large as the diameter of the latter.

---

[h] Micronair (aerial) Ltd., Bembridge Fort, Sandown, Isle of Wight

[i] Beeco Products Co., Fort-Washington, Pa. USA

[h] Micronair (aerial) Ltd., Bembridge Fort, Sandown, Isle of Wight

[i] Beeco Preoducts Co., Fort-Washington, Pa. USA

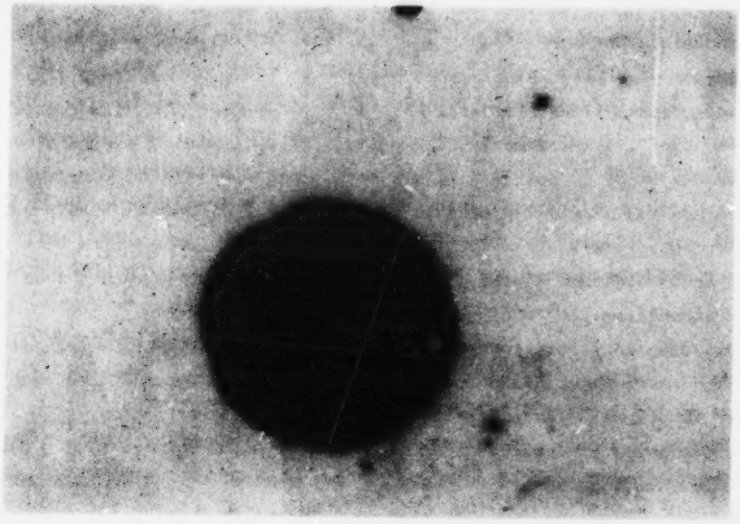

Figure 1. Impression des gouttelettes sur papier témoin. On note la masse solide au centre entourée d'une zone diffusée partiellement dans le papier.

Droplet impression on test paper. Note the central core surrounded by a zone partly diffused in the paper.

Perte par évaporation

La préparation utilisée avant 1973 sur recommandation du manufacturier, a donné un dépôt au sol[J] moyen de 3,14 L/ha pour une dispersion originale[K] de 18,7 L/ha, soit 83% de perte par évaporation. La préparation développée dans notre Section de pathologie des insectes et utilisant le Thuricide comme concentré de bacille et le sorbitol comme antiévaporant a donné par contre un dépôt de 3,31 L/ha pour une dispersion originale de 4,7 L/ha soit seulement 29% de perte par évaporation. Dans le cas des préparations Thuricide + NaH_2PO_4 le dépôt fut de 2,9 L/ha pour une dispersion originale de 4,7 L/ha, soit une perte par évaporation de 38%, 9% de plus par rapport aux préparations Thuricide + sorbitol.

Loss through evaporation

The formula used before 1973 following recommendations of the manufacturers, gave an average deposit[J] of 3.14 L/ha for an original[K] dispersion volume of 18.7 L/ha, 83% was lost through evaporation. The formula developed by our Insect Pathology Unit, using Thuricide as bacillary concentrate and sorbitol as anti-evaporant carrier, gave a deposit of 3.31 L/ha for an emitted volume of 4.7 L/ha, i.e. only 29% lost through evaporation. The thuricide + NaH_2PO_4 formula had a deposit of 2.9 L/ha (original emitted volume 4.7), i.e. evaporation loss amounted to 38%, 9% more than with Thuricide + sorbitol.

[J] Dépot au sol-fraction de la dispersion échantillonnée au niveau du sol

[K] Dispersion originale-volume projeté à la sortie du système de dispersion

[J] Deposit-fraction of the dispersion sampled at ground level

[K] Original dispersion-emitted volume

Évaluation des systèmes de dispersion

Estimation du dépôt au sol

Le **système Micronair** a été utilisé à un taux de dispersion de 18,7 L/ha avec la préparation **A**, Thuricide HPC + polyglycol 400. Dans une première parcelle on obtint en moyenne un dépôt de 105 gouttelettes/cm^2 et un volume déposé de 2,89 L/ha. Dans la seconde parcelle, le dépôt fut de 152 gouttelettes/cm^2 et le volume déposé de 3,55 L/ha. Pour l'ensemble des deux parcelles, la moyenne de dépôt de préparation est de 128,5 gouttelettes/cm^2 et le volume 3,22 L/ha.

Le **système de dispersion Beecomist** utilisé à 4,7 L/ha avec la préparation **B** (Thuridide + sorbitol) a donné un dépôt moyen de 25,1 gouttelettes/cm^2 et un volume déposé de 3,9 L/ha.

Le **système à longerons et buses** utilisé avec la même préparation que précédemment au même taux de dispersion a donné un dépôt moyen de 22,7 gouttelettes/cm^2 et un volume de 1,2 L/ha. Utilisé avec la préparation **A** (Thuricide HPC + polyglycol 400) à 18,7 L/ha le **système à longerons et buses** a donné un dépôt de 32,6 gouttelettes/ cm^2 et un volume de 3,52 L/ha, ce qui est légèrement supérieur au 3,22 L/ha obtenus avec le **système Micronair.**

Caractéristiques du spectre de distribution des gouttelettes

Dans le cas du **système Micronair** l'analyse a été faite manuellement et est résumée à la figure 2. On y note que le maximum de volume dispersé est contenu dans des gouttelettes dont le diamètre mesuré sur papier témoin se situe entre 90 et 150 µm. Egalement, on observe une chute rapide de l'apport des gouttelettes supérieures à 150 µm sur le volume total dispersé.

Evaluation of spray systems

Deposit assessment

The **Micronair system** was used for dispersion of 18.7 L/ha with formula **A** Thuricide HPC + polyglycol 400. In one plot a mean deposit of 105 droplets/cm^2 and a volume deposit of 2.89 L/ha were achieved. In the second plot the deposit was 152 droplets/cm^2, and the deposit volume was 3.55 L/ha. The mean for the two plots was 128.5 droplets/cm^2 and a volume of 3.22 L/ha.

The **Beecomist system** was used for spraying 4.7 L/ha with formula **B** (Thuricide + sorbitol). Analysis revealed a mean deposit of 25.1 droplets/cm^2 and the volume deposited was 3.91 L/ha.

The **boom and nozzle system** used to disperse the above formula at the same spray rate gave a mean deposit of 22.7 droplets/cm^2 and a volume of 3.52 L/ha. This system used to disperse formula **A** (Thuricide HPC + polyglycol 400) at a rate of 18.7 L/ha yielded a deposit of 32.6 droplets/ cm^2 and a volume of 3.52 L/ha, which is slightly superior to the 3.22 L/ha obtained with the **Micronair system.**

Characteristics of droplet spectrum

The **Micronair system** was evaluated mannually (Figure 2). The maximum volume dispersed is contained in the droplets with a diameter between 90 and 150 µm on the test papers. A rapid decline in the supply of droplets larger than 150 µm in the total dispersed volume was also observed.

The **Beecomist system** gave three diameter peaks, between 40 and 60 µm, 100 and 200 µm, and 300 and 400 µm (Figure 3). The major peak

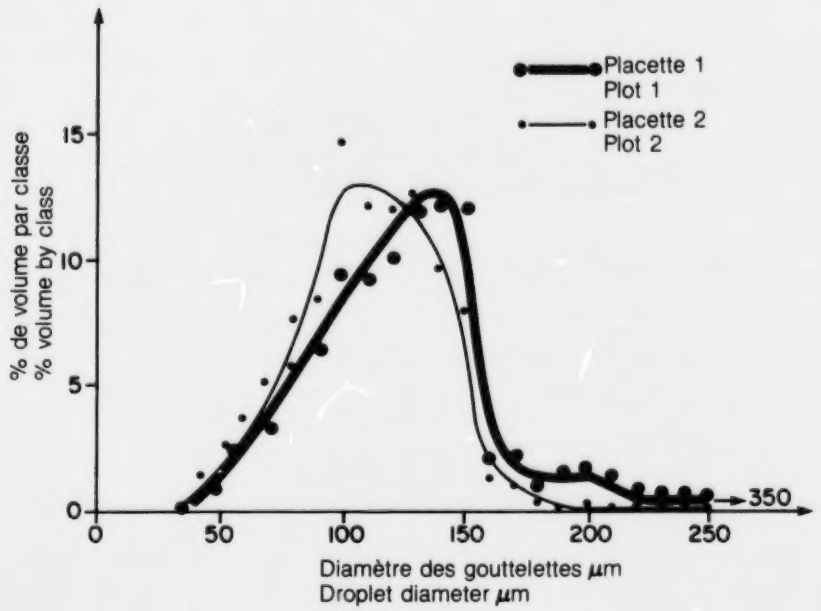

Figure 2. Rapport entre le volume dispersé et la dimension des gouttelettes.
Ratio between the emitted volume and droplet size.

L'utilisation du **système Beecomist** donne 3 points de culmination; entre 40 et 60 µm, 200 et 300 µm, et 300 et 400 µm (figure 3). Le point de culmination principal se situe entre 100 et 200 µm avec 38% des gouttelettes formées. Par ailleurs, 64% de la dispersion est composée de gouttelettes entre 100 et 400 µm.

Dans le cas du **système à longerons et buses** on note 2 points de culmination contigüs entre 200 et 300 µm, et 300 et 400 µm correspondant à 27,3 et 25,2% de la dispersion (figure 4). Un autre 13,5% de gouttelettes se situe dans la classe diamètre entre 400 et 500 µm. On note que dans le cas du **Beecomist** 78,9% de la dispersion est composée de gouttelettes de diamètre inférieur à 400 µm, alors que pour le **système à buses** ce chiffre est de 68,2%. Egalement, dans le cas des **Beecomists** 60% des gouttelettes sont inférieures à 200 µm alors que dans le cas du **système à longerons et buses** ce nombre n'est que de 15,7%. Dans le cas de *B. thuringiensis* il est particulièrement important d'obtenir plus de grosses gouttelettes que de petites pour permettre une bonne répartition de la dispersion en forêt. Effectivement, une étude du

is between 100 and 200 µm with 38% of the droplets formed; 64% of the total dispersion volume is made up of droplets between 100 and 400 µm.

The **boom and nozzle system** gave two contiguous diameter peaks between 200 and 300 µm and 300 and 400 µm corresponding to 27.3 and 25.2% of the dispersion volume respectively (Figure 4). Another 13.5% of the droplets are in the 400-500 µm diameter class. The **Beecomist** dispersed 78.9% of the droplets at a diameter less than 400 µm, whereas this figure was 68.2% for the **boom and nozzle system.** The **Beecomist system** dispersed 60% of droplets less than 200 µm in diameter, whereas there were only 15.7% below this size with the **boom and nozzle systems** It is important to obtain large droplets when applying *B. thuringiensis* as they facilitate a good distribution of the spray volume in the forest. An investigation of the ratio droplet diameter/number of spores per droplet reveals that a 100 µm droplet contains 4 000 spores whereas a 150 µm droplet contains 16 000 spores (Figure 5). Spruce budworm larvae must ingest the microorganisms to be infected, therefore large droplets offer a greater

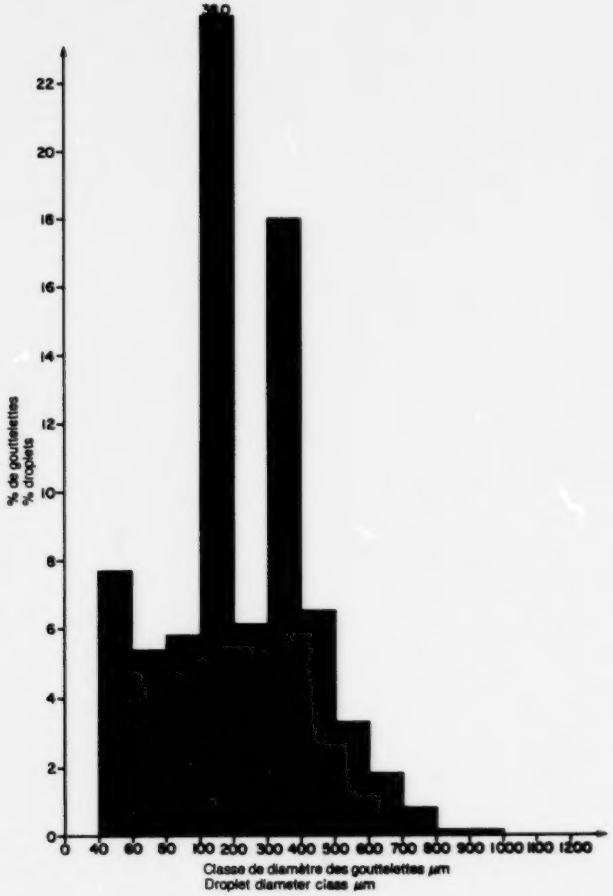

Figure 3. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papiers témoins. Préparation Thuricide + sorbitol, système de dispersion Beecomist.

Droplet distribution by diameter classes on test paper. Thuricide + sorbitol formula. Becomist spray system.

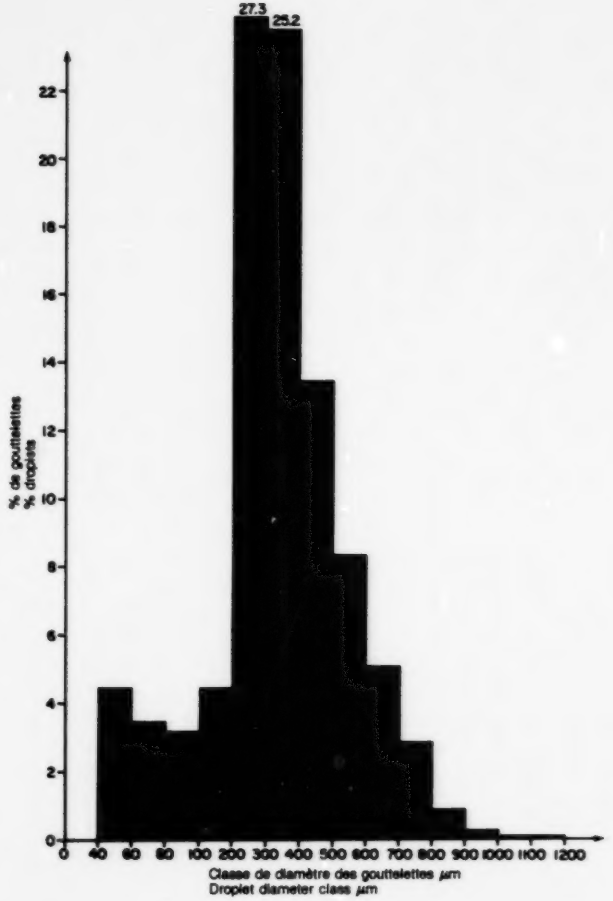

Figure 4. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Thuricide + sorbitol, système de dispersion à longerons et buses.
Droplet distribution by diameter classes on test papers. Thuricide + sorbitol formula. Boom and nozzle spray system.

rapport diamètre des gouttelettes/quantité de spores par gouttelette indique qu'une gouttelette de 100 µm contient 4 000 spores alors qu'une gouttelette de 150 µm en contient 16 000 (figure 5). Compte tenu également du fait que les larves de la tordeuse doivent ingérer le microorganisme pour être infectées, les grosses gouttelettes offrent plus de possibilités d'infection par rapport aux plus petites, d'autant plus que la répartition des spores par gouttelette n'est pas nécessairement homogène puisqu'il s'agit d'une suspension et non d'une dilution. Ainsi, la production de gouttelettes trop petites pourrait amener la formation de gouttelettes ne contenant pas de matériel pathogène.

potential for infection than small ones, more so as spore distribution in the droplets is not necessarily uniform: this is a suspension, not a dilution. Very small droplets may not contain pathogenic material.

Efficacité relative des préparations

Dans le tableau 1 on trouve un résumé du dépôt au sol en nombre de gouttelettes et en volume pour chaque combinaison de préparations expérimentées de 1973 à 1977. On y note que le volume au sol des préparations avec sorbitol est supérieur aux préparations avec NaH_2PO_4 dans les cas du Novabac et du Thuricide. Par exemple, le volume déposé par la préparation Thuricide + phosphate est de 2,6 L/ha comparativement à 3,5 L/ha pour le sorbitol.

Par ailleurs, en comparant les données du tableau 1 en fonction des concentrés de bacille utilisés pour une préparation donnée, on note que le Dipel est plus volatile que le Novabac et le Thuricide. Par exemple, avec la préparation à base de NaH_2PO_4 le volume déposé au sol est de 1,6 L/ha pour Dipel, 1,9 L/ha pour le Novabac et 2,6 L/ha pour le Thuricide (tableau 1).

Dans le cas du Thuricide il y a une similitude dans la répartition des gouttelettes avec la préparation à base de sorbitol et de NaH_2PO_4 (figures 4 et 6) avec respective-

Relative effectiveness of formulas

Table 1 summarizes deposits at ground level in number of droplets and volume for each experimental combination of formulas used between 1973 and 1977. Novabac and Thuricide with sorbitol additive yielded a larger deposit volume at ground level than the formula with NaH_2PO_4. The Thuricide + phosphate formula deposited volume was 2.6 L/ha compared to 3.5 L/ha for the formula with sorbitol.

A comparison of the data listed in Table 1 as a function of the bacillary concentrates used in a given formula, reveals that Dipel is more volatile than Novabac and Thuricide. For example, the NaH_2PO_4 formula deposited volume at ground level was 1.6 L/ha for Dipel, 1.9 L/ha for Novabac, and 2.6 L/ha for Thuricide (Table 1).

Formulas with Thuricide as the concentrate, either used with sorbitol or NaH_2PO_4, show a similar droplet distribution (Figure 4 and 6) with 52.5 and 56.7% of the dispersion made up of droplets with a diameter between 200 and 400 µm.

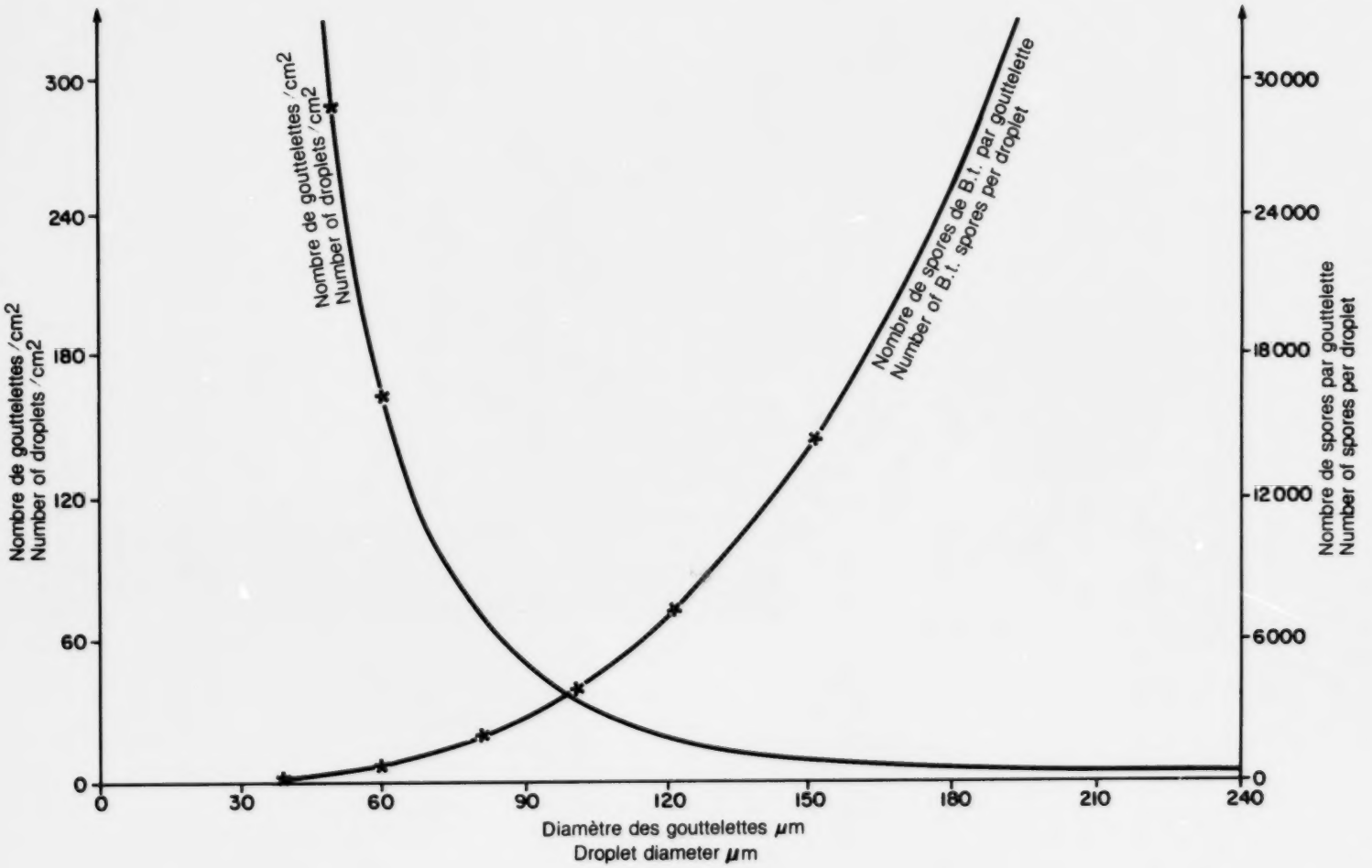

Figure 5. Rapport entre la dimension des gouttelettes et la quantité relative de spores par gouttelette.[1]
Ratio between droplet size and the relative number of spores per droplet.[1]

---

[1] La figure 5 ne peut être utilisée pour fin de référence puisqu'elle sera la base d'une publication séparée.
Figure 5 cannot be used for reference since it will form the basis for another separate paper.

Tableau 1. Dispersion des concentrés de *Bacillus thuringiensis* Dipel SC-36B, Novabac 32B, et Thuricide 32B dans des préparations à base de sorbitol et de phosphate dihydrogène de sodium (NaH_2PO_4). Résultats de 1973 à 1977.

Table 1. Dispersion of the *Bacillus thuringiensis* concentrates Dipel SC-36B, Novabac 32B, and Thuricide 32B in sorbitol and sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4)-based formulas. Results from 1973 to 1977.

Préparations Formulas	Gouttelettes/cm^2 Droplets/cm^2	Volume L/ha
Dipel + NaH_2PO_4	7.9 ± 0.5	1.6 ± 0.2
Dipel + sorbitol	10.2 ± 1.2	1.6 ± 0.08
Novabac + NaH_2PO_4	15.1 ± 2.0	1.9 ± .06
Novabac + sorbitol	20.3 ± 1.4	3.4 ± 0.09
Thuricide + NaH_2PO_4	21.4 ± 1.5	2.6 ± .07
Thuricide + sorbitol	20.3 ± 1.2	3.5 ± 0.08

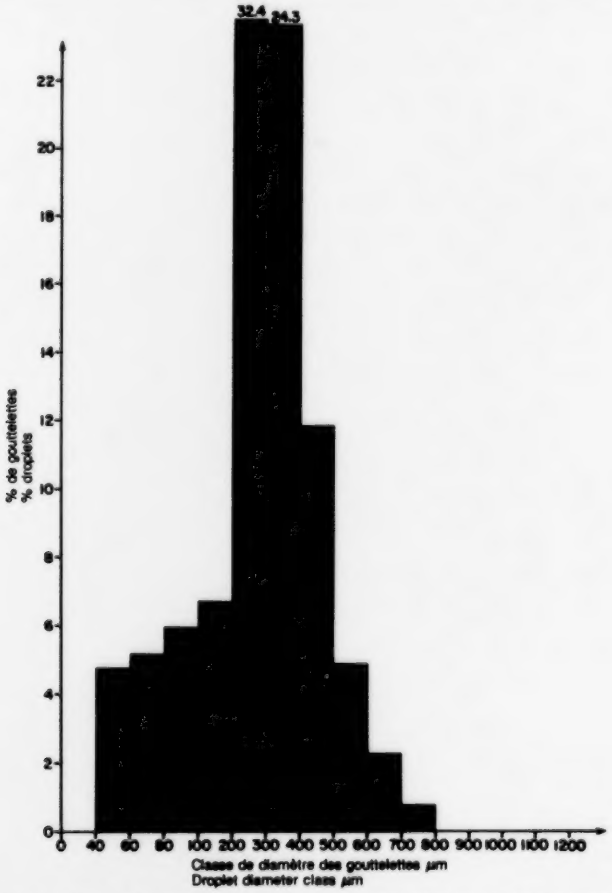

Figure 6. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Thuricide + phosphate, système de dispersion à longerons et buses.

Droplet distribution by diameter classes on test papers. Thuricide + phosphate formula, boom and nozzle spray system.

ment 52,5 et 56,7% de la dispersion formée de gouttelettes entre 200 et 400 µm de diamètre. Les histogrammes pour le Dipel sont différents. Dans le cas de la préparation à base de NaH_2PO_4 on note 2 points de culmination contigüs, 29,3% de la dispersion formée de gouttelettes de 200 à 300 µm et 24,4% entre 300 et 400 µm (figure 7), tandis que la préparation Dipel + sorbitol enregistre un seul point de culmination, 25,4% entre 200 et 300 µm (figure 8). Egalement, la préparation Dipel + sorbitol présente 37,8% de gouttelettes d'un diamètre supérieur à 200 µm alors qu'avec NaH_2PO_4 cette proportion tombe à 26,5%.

La répartition des gouttelettes avec les préparations Novabac + sorbitol et Novabac + phosphate est également très différente. Dans le cas du sorbitol on note 3 points de culmination, 22,2% dans la classe de diamètre entre 200 et 300 µm, 22,3% entre 300 et 400 µm, et 16,6% entre 400 et 500 µm pour un total de 61,1% de la dispersion entre 200 et 500 µm (figure 9).

La préparation Novabac + phosphate ne montre qu'un seul point de culmination, 28,8% entre 200 et 300 µm, tandis que 50,8% de la dispersion se compose de gouttelettes de diamètre entre 200 et 500 µm (figure 10). Par ailleurs, Novabac + phosphate donne 33,4% de gouttelettes inférieures à 200 µm comparativement à 21% dans le cas du sorbitol.

CONCLUSIONS

I. A la suite de toutes ces années d'analyse nous sommes convaincus que les préparations de *B. thuringiensis* ne peuvent être utilisées et évaluées d'après la technologie utilisée avec les préparations de pesticides chimiques. Ce sont des suspensions dont les propriétés physiques fondamentales sont différentes des solutions chimiques.

II. Les préparations développées au CRFL réduisent considérablement la perte par évaporation comparativement aux préparations origi-

The Dipel histograms are different. Two contituous peaks are in evidence for the formula with a NaH_2PO_4 base: 29.3% of the dispersed volume is made up of 200 to 300 µm droplets and 24.4% have a diameter between 300 and 400 µm (Figure 7). The Dipel + sorbitol formula has one single peak: 25.4% between 200 and 300 µm (Figure 8). The Dipel + sorbitol formula also presents 37.8% of droplets with a diameter above 200 µm whereas that proportion falls to 26.5% in the formula with NaH_2PO_4.

The Novabac + sorbitol and Novabac + phosphate formulas also show a very different droplet distribution. There are three peaks in the diameter class of the sorbitol formula: 22.2% from 200 to 300 µm, 22.3% between 300 and 400 µm, and 16.6% from 400 to 500 µm for a total of 61.1% of the volume dispersed between 200 to 500 µm. (Figure 9).

Novabac + phosphate has a single peak: 28.8% between 200 and 300 µm; while 50.8% of the dispersion volume is composed of droplets with a diameter between 200 and 500 µm (Figure 10). Moreover, Novabac + phosphate formulas yield 33.4% of droplets below 200 µm, compared to 21% with sorbitol.

CONCLUSIONS

I. Many years of analysis convinced us that *B. thuringiensis* formulas cannot be applied and be evaluated with the same technologies used for chemical pesticides. The former are suspensions, their physical properties differ fundamentally from chemical solutions.

II. By comparison with the formulas recommended by the manufacturers, the formulas developed by LFRC reduce loss through evapora-

nalement proposées par les manufacturiers. La concentration des préparations développée diminue le volume requis et augmente considérablement l'économie d'utilisation.

III. Les préparations à base de sorbitol permettent l'obtention d'un meilleur dépôt au sol pour un même volume de dispersion avec chacun des trois concentrés de bacille utilisés. Le sorbitol possède de meilleures propriétés anti-évaporation puisqu'il permet à une quantité supérieure de gouttelettes de plus grande dimension d'atteindre le feuillage à protéger. Ce plus grand nombre de gouttelettes de bonne dimension signifie un plus grand potentiel du pathogène.

IV. Pour une préparation donnée, le système de dispersion **Micronair** donne un volume déposé légèrement inférieur au **système à longerons et buses**, 3,22 L/ha vs 3,55 L/ha. Les systèmes **Micronair** et **Beecomist** donnent de plus petites gouttelettes que le **système à longerons et buses** ce qui n'est pas souhaitable dans le cas du bacille. Les petites gouttelettes augmentent les risques de perte par évaporation pendant la dispersion et diminuent le potentiel pathogène par gouttelette.

V. Des trois concentrés de bacille testés, le Dipel SC-36B est nettement plus volatile que le Thuricide 32B et le Novabac 32B.

Pour obtenir de meilleurs résultats avec *B. thuringiensis* contre la tordeuse, il est recommandé d'utiliser la préparation Thuricide + sorbitol dispersée au moyen d'un avion équipé d'un **système à longerons et buses** calibrés de telle sorte que la majorité des gouttelettes imprimées sur papier témoin soient dans la classe de diamètre entre 200 et 400 µm. Effectivement, l'utilisation de la préparation et du système de dispersion recommandé précédemment a donné de très bons résultats lors d'essais en forêt (Smirnoff 1979, 1980a).

tion. The concentration of the newly-developed formulas reduces the volume required and makes their use more economical.

III. Of the three bacillary concentrates, sorbitol formulas yield a better deposit at ground level for the same emitted volume. Sorbitol has better anti-evaporant properties; it allows more droplets of larger dimensions to reach the foliage they are to protect. Having more larger droplets available translates into a greater pathogenic potential.

IV. The deposit volume achieved with the **Micronair system** for a given formula was slightly inferior to that attained by the **boom and nozzle system**: 3.22 L/ha compared to 3.55 L/ha. The **Micronair** and **Beecomist systems** produce smaller droplets than the **boom and nozzle system**; this is undesirable for bacilli. Small droplets increase the risk of evaporation loss during spraying, and reduce the pathogenic potential per droplet.

V. Of the three bacillary formulas tested, Dipel SC-36B is clearly more volatile than Thuricide 32B and Novabac 32B.

For best results in controlling the spruce budworm with *B. thuringiensis* it is recommended that the Thuricide + sorbitol formula be used and sprayed by an aircraft equipped with a **boom and nozzle spray system** calibrated to assure that the majority of droplets falling on the test papers will be in the 200 to 400 µm diameter class. The formula and the dispersion system recommended earlier have given very good results in field tests (Smirnoff 1979, 1980a).

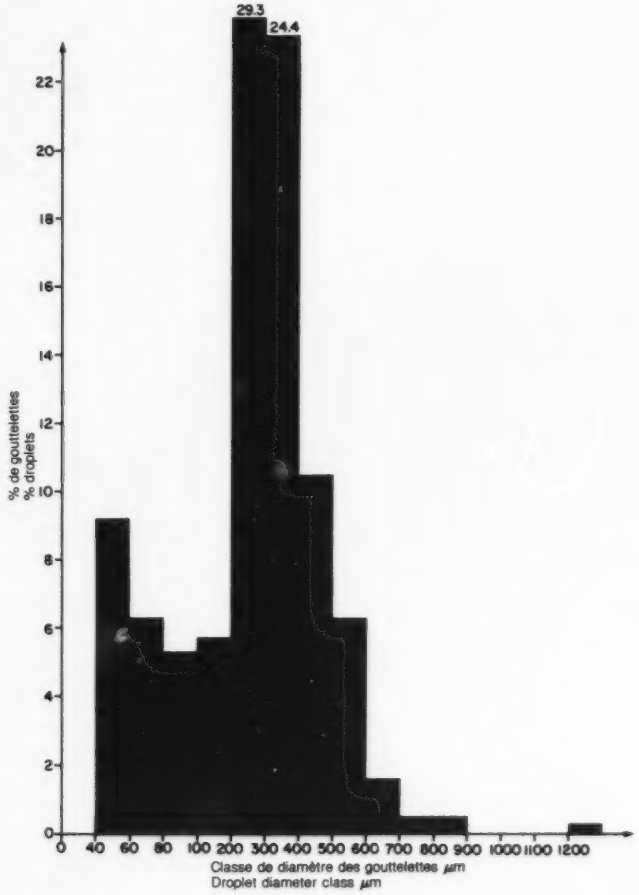

Figure 7. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Dipel + phosphate, système de dispersion à longerons et buses.

Droplet distribution by diameter classes on test paper. Dipel + phosphate formula. Boom and nozzle spray system.

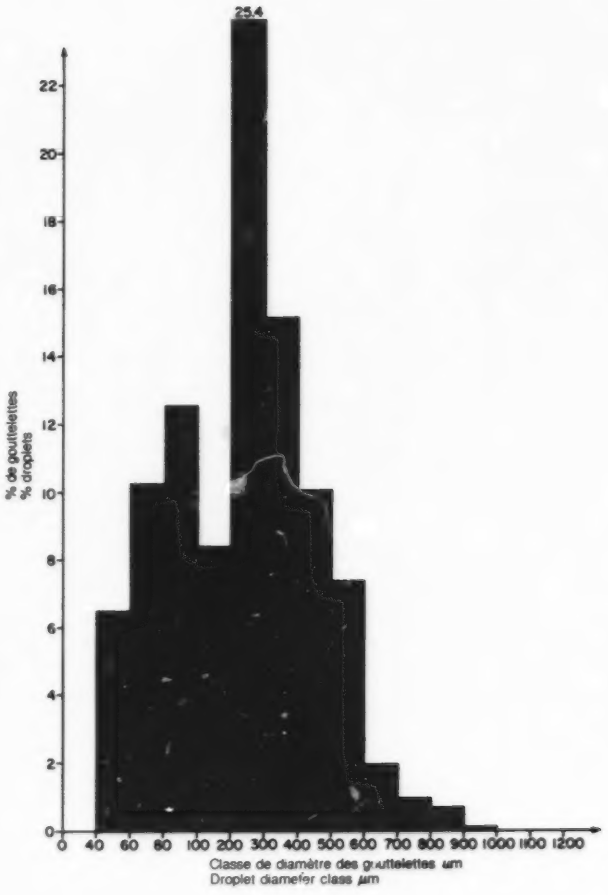

Figure 8. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Dipel + sorbitol, système de dispersion à longerons et buses.

Droplet distribution by diameter classes on test paper. Dipel + sorbitol formula. Boom and nozzle spray system.

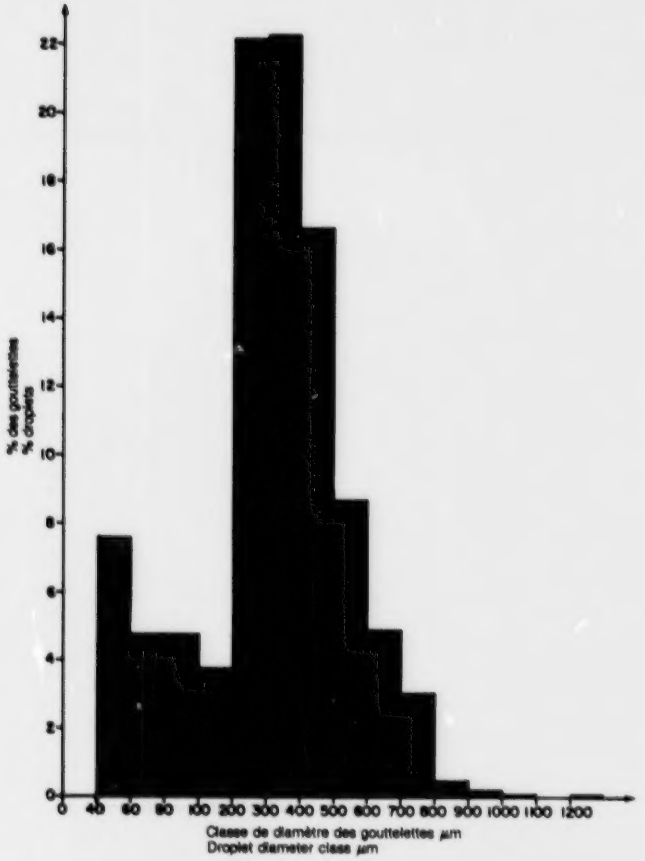

Figure 9. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Novabac + sorbitol, système de dispersion à longerons et buses.

Droplet distribution by diameter classes on test paper. Novabac + sorbitol formula. Boom and nozzle spray system.

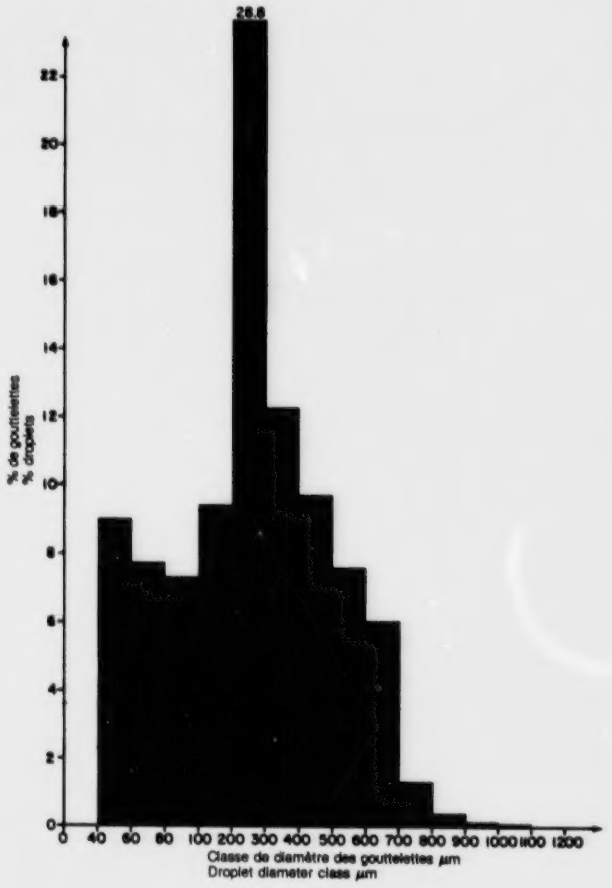

Figure 10. Répartition de la dispersion par classe de diamètre des gouttelettes sur papier témoin. Préparation Novabac + phosphate, système de dispersion à longerons et buses.
Droplet distribution by diameter classes on test paper. Novabac + phosphate formula. Boom and nozzle spray system.

TRAVAUX RECENTS

A partir de la première conclusion de ce travail une nouvelle méthode pour l'évaluation de la dispersion au sol a été développée. Cette méthode accorde priorité à l'aspect bactériologique des préparations en permettant une évaluation quantitative du nombre de spores viables déposées (Smirnoff 1980b).

La deuxième conclusion de ce travail a inspiré le développement d'une préparation ultra-concentrée de *B. thuringiensis* permettant la dispersion des 20 B.I.U./ha requis pour la tordeuse dans un volume final de 2,5 L/ha. La nouvelle préparation concentrée tient également compte des résultats du présent travail concernant les propriétés excellentes du sorbitol comme adjuvant et anti-évaporant. La nouvelle préparation a été testée en forêt en 1980 et 1981 (Smirnoff et al. 1982).

RECENT FINDINGS

A new method for deposit assessment at ground level was developed. This method gives precedence to the bacterial aspect of these formulas by allowing for a quantitative evaluation of the viable spores deposited (Smirnoff 1980b).

The second conclusion drawn from this work led to the development of a new highly concentrated *B. thuringiensis* formula for the spruce budworm control with a dispersion of the required 20 B.I.U./ha in a final volume of 2.5 L/ha. The new highly concentrated formula also takes into account the results of the present study which confirmed the excellent adjuvant and anti-evaporant properties of sorbitol. The new formula was tested in the forest in 1980 and 1981 (Smirnoff et al. 1982).

RÉFÉRENCES/REFERENCES

Slack, W.E. 1972. The National aeronautical establishment flying spot scanner/analyser. DME/NAE Quartely Bulletin No. 3.

Smirnoff, W.A. 1971. Effect of chitinase on the action of *Bacillus thuringiensis*. Can. Ent. 103: 1829-1831.

Smirnoff, W.A. 1977. Confirmations expérimentales du potentiel du complexe *Bacillus thuringiensis* et chitinase pour la répression de la tordeuse des bourgeons de l'épinette, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Toricidae). Can. Ent. 109: 351-358.

Smirnoff, W.A. 1978a. Dispersion aérienne expérimentale de *Bacillus thuringiensis* pour la répression de la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Serv. Can. For. Rev. Bimenstrielle Rech. 34: 30.

Smirnoff, W.A. 1978b. Dispersion terrestre expérimentale de *Bacillus thuringiensis* + chitinase contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Ann. Soc. Ent. Québec. 23: 186-191.

Smirnoff, W.A. 1979. Results of spraying *Bacillus thuringiensis* 2 consecutive years over balsam fir stands damaged by spruce budworm. Can. J. For. Res. 9: 509-513.

Smirnoff, W.A. 1980a. Results of aerial treatments with *Bacillus thuringiensis* against spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*, during 3 consecutive years. Can. Ent. 112: 857-859.

Smirnoff, W.A. 1980b. Deposit assessment of *Bacillus thuringiensis* formulations applied from an aircraft. Can. J. Microbiol. 26: 1364-1366.

Smirnoff, W.A.; Randall, A.P.; Martineau, R.; Haliburton, W.; Juneau, A. 1973a. Field test of the effectiveness of chitinase additive to *Bacillus thuringiensis* Berliner against *Choristoneura fumiferana* (Clem.). Can. J. For. Res. 3:228-236.

Smirnoff, W.A.; Fettes, J.J.; Desaulnier, R. 1973b. Aerial spraying of *Bacillus thuringiensis* -chitinase formulation for the control of spruce budworm. Can. Ent. 105: 1535-1544.

Smirnoff, W.A.; Larson, L.V.; Juneau, A.; Valéro, J.R. 1974. Test with a highly concentrated low-volume formulation of *Bacillus thuringiensis* against spruce budworm. Can. For. Serv. Bi-Mon. Res. Notes. 30:9.

Smirnoff, W.A.; Desaulniers, R.; Juneau, A.; Valéro, J.; Pelletier, M. 1976. Résultats de la dispersion aérienne d'une formulation concentrée de *Bacillus thuringiensis* avec addition de chitinase contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette en 1974. Ann. Soc. Ent. Qué. 21: 26-34.

Smirnoff, W.A.; Hardy, Y.J. 1978. An assay of sequential application of Fenitrothion and *Bacillus thuringiensis* for an integrated control of the spruce budworm. Can. J. For. Res. 8:300-305.

Smirnoff, W.A.; Juneau, A. 1979. Results of aerial spraying with *Bacillus thuringiensis* against the spruce budworm in Quebec in 1975. Ann. Soc. Ent. Qué. 24:131-138.

Smirnoff, W.A.; Juneau, A.; Valéro, J.R. 1982. Essai d'une préparation ultra-concentrée de *Bacillus thuringiensis* contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Can. J. For. Res. 12:105-107.

Steinhaus, E.A. 1951. Possible use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the biological control of the alfalfa caterpillar. Hilgardia 20:359-381.

Steinhaus, E.A. 1957. List of insects and their susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Berliner and closely related bacteria. Mimeographed series No. 4, Laboratory of Insect Pathology, Dept. of Biol. Control, University of Berkely, October 1957:1-24.

Stern, V.M.; Hall, I.M.; Peterson, G.D. 1959. The utilization of *Bacillus thuringiensis* Berliner as a biotic insecticide to suppress the alfafa caterpillar. J. Ins. Pathol. 1: 142-151.